



เลขที่อนุสิทธิบัตร 25421

อสป/200 - ข

อนุสิทธิบัตร

อาศัยอำนาจตามความในพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญาออกอนุสิทธิบัตรฉบับนี้ให้แก่

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สำหรับการประดิษฐ์ตามรายละเอียดการประดิษฐ์ ข้อถ้อยสิทธิ และรูปเขียน (ถ้ามี) ดังที่ปรากฏในอนุสิทธิบัตรนี้

เลขที่คำขอ 2203001857

วันขอรับอนุสิทธิบัตร 26 กรกฎาคม 2565

ผู้ประดิษฐ์ นางสาวรัชนิราวรรณ อุ่นแพทย์ และ นายอนิรุจน์ เหล่าศรีโชค

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์ กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพุดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา

ให้ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรนี้มีสิทธิและหน้าที่ตามกฎหมายว่าด้วยสิทธิบัตรทุกประการ



ออกให้ ณ วันที่ 19 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2568

หมดอายุ ณ วันที่ 25 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2571

(นายกิตติวัฒน์ ปัจฉิมนันท์)
รองอธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา ปฏิบัติราชการแทน
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา
ผู้ออกอนุสิทธิบัตร

- หมายเหตุ
1. ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรต้องชำระค่าธรรมเนียมรายปีเริ่มตั้งแต่ปีที่ 5 ของอายุอนุสิทธิบัตร มิฉะนั้น อนุสิทธิบัตรนี้จะสิ้นสุดอายุ
 2. ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรจะขอชำระค่าธรรมเนียมรายปีล่วงหน้าโดยชำระทั้งหมดในคราวเดียวได้
 3. ภายใน 90 วันก่อนวันสิ้นสุดอายุอนุสิทธิบัตร ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรมีสิทธิขอต่ออายุอนุสิทธิบัตรได้ 2 ครั้ง มีกำหนดคราวละ 2 ปี โดยยื่นคำขอต่ออายุ ต่อพนักงานเจ้าหน้าที่
 4. การอนุญาตให้ใช้สิทธิตามอนุสิทธิบัตรและการโอนอนุสิทธิบัตรต้องทำเป็นหนังสือและจดทะเบียนต่อพนักงานเจ้าหน้าที่

พนักงานเจ้าหน้าที่



Ref.256801023949324

รายละเอียดการประดิษฐ์

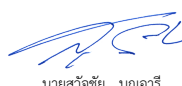
ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพื้ผ่านการฉายรังสีแกมมา
สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

- 5 เทคโนโลยีชีวภาพ ที่เกี่ยวข้องกับการกรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพื้ผ่านการฉายรังสีแกมมา

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

- อนุมูลอิสระเป็นต้นเหตุของปัญหาสุขภาพในปัจจุบัน เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ภายในร่างกาย เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และเยื่อหุ้มเซลล์ จึงส่งผลให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมามากมาย ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคพาร์กินสัน และโรคเบาหวาน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องลดปริมาณของอนุมูลอิสระโดยหลีกเลี่ยงปัจจัยในการทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ การสูดดมควัน
- 10 นอกจากนั้นการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ จะมีส่วนช่วยในการป้องกันความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ เพราะสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพื่อยับยั้งความเสียหายที่เกิดขึ้น โดยปกติแล้วภายในร่างกายนั้นสามารถที่จะผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ในระดับหนึ่ง แต่ก็ต้องการ
- 15 สารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเพื่อช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากสภาพแวดล้อมในปัจจุบัน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในปัจจุบัน เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี กลูตาไธโอน และโอเมก้า-3 โดยสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ได้มาจากแหล่งวัตถุดิบที่มีราคาสูง หรือเกิดจากการสังเคราะห์ขึ้น ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น และอาจมีผลข้างเคียงจากการใช้ในปริมาณที่มาก จึงทำให้การใช้แหล่งของสาร
- 20 ต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติได้รับความนิยม เพราะมีความปลอดภัยสูงในการรับประทาน ตัวอย่างเช่น โปรตีนที่สกัดได้จากพืชนั้น มีรายงานในงานวิจัยว่ามีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง และมีต้นทุนในการผลิตต่ำ สามารถใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะโปรตีนจากเมล็ดถั่วพื้เพราะมีปริมาณของโปรตีนที่สูง ราคาถูก จึงมีความน่าสนใจในการนำไปผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพื้ซึ่งใช้เป็นแหล่งของอาหารเสริมโปรตีนสูงและมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้
- 25 การฉายรังสีแกมมานั้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีในผลิตภัณฑ์อาหาร การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในไบโอโพลีเมอร์ เช่น โปรตีน เป็นต้น ซึ่งการฉายรังสีแกมมาไปยังโปรตีนนั้นมีประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อม ผลประโยชน์โดยตรงคือรังสีแกมมาที่ฉายไปยังโมเลกุลของโปรตีนจะถูกดูดซับทำให้โมเลกุลของโปรตีนนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลง และผลกระทบทางอ้อมคือ โมเลกุลของน้ำ และ
- 30 สารจำพวกอนุมูลอิสระ เช่น ไฮดรอกซิลเรดิคัล และอิเล็กตรอนไฮเดรต ทำให้เกิดปฏิกิริยาโดยตรงกับโมเลกุลของโปรตีนและสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนหรือทำให้เกิดการแตกหักของพันธะโควาเลนต์ในสายโซ่โพลีเปปไทด์ได้ นอกจากนั้นยังพบว่าในรายงานวิจัยของ Botanicae N. และคณะ ปี 2011 ได้ทำการฉายรังสีแกมมาในช่วงช่วง 0.5 ถึง 7.5 Kgy ไปยังเมล็ดพืช 3 ชนิดได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง



นายสุวัจชัย บุญอารี

- และงา จากนั้นทำการศึกษารูปแบบของโปรตีนที่เปลี่ยนแปลง ปริมาณการละลายน้ำของโปรตีนทั้งหมด โดยผลการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบโปรตีนขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีและชนิดของเมล็ด น้ำมัน ถั่วเหลือง ถั่วลิสง และงา จะเห็นได้ว่าประโยชน์ของการฉายรังสีแกมมาไปยังโปรตีน กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับโปรตีน นั้นมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนไปจากเดิม ซึ่งสิ่ง
- 5 นำสนใจคือผลิตภัณฑ์ที่ได้ ว่าจะมีคุณสมบัติทางชีวภาพในรูปแบบไหน ยกตัวอย่างเช่นในงานวิจัยของ Aly A. และ H. El-Beltagi ปี 2010ทำการศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาที่มีต่อเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระของ เมล็ดถั่วปากอ้า เป็นต้น

- โปรตีนไฮโดรไลเสท เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มากจากการย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีน (ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส) ให้อยู่ในรูปของโพลีเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโน ที่มีขนาดโมเลกุลต่างกัน ซึ่งการ
- 10 ปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนนั้นส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมี เช่น มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี ความเป็นขั้วทางไฟฟ้าสูงขึ้น หรือมีมวลโมเลกุลที่ลดลง สำหรับโปรตีนที่ได้จากเมล็ดถั่วพุนั้นมีปริมาณโปรตีนที่สูง ซึ่งใกล้เคียงกับโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองและยังพบว่าโปรตีนจากถั่วพุนั้นยังสามารถใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในอาหารสัตว์ เช่น การใช้เมล็ดถั่วพุนั้นเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลา ซึ่งสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลาได้ดีเทียบเท่ากับอาหารสูตรสำเร็จรูป
- 15 นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพุนั้นยังมีรายงานว่ามีความสามารถในการลดความดัน และคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้

- กระบวนการในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทนั้นแบ่งได้เป็น 3 วิธี ได้แก่ 1. วิธีทางกายภาพโดยการใช้ความร้อน ซึ่งเป็นวิธีแบบดั้งเดิม คือใช้ความร้อนในการทำลายพันธะของโปรตีน และทำให้ปราศจากเชื้อแบคทีเรีย ใช้ในการกำจัดสารพิษ ลดสารที่ก่อให้เกิดภูมิแพ้ เพื่อปรับปรุงเนื้อสัมผัสและรสชาติ 2. วิธีทาง
- 20 กายภาพที่ไม่ใช้ความร้อน เป็นการเพิ่มความดันสูง หรือ คลื่นอัลตราซาวด์ ในการเข้าไปทำลายพันธะภายในโมเลกุลของโปรตีน พบว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติของโปรตีนได้ และ 3. วิธีทางเคมี ได้แก่การใช้สารละลายกรดในการย่อยโปรตีน การใช้สารละลายด่าง และวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะในการตัดพันธะของเปปไทด์ สภาวะของปฏิกิริยาไม่สูง และสามารถควบคุมได้ ซึ่งปัจจัยที่ควรคำนึงถึง เช่นชนิดของ
- 25 เอนไซม์ที่ใช้ ขนาดโมเลกุลของโปรตีนตั้งต้น ระยะเวลา ค่าความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ดังนั้นการควบคุมสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยต่อการทำงานของเอนไซม์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ สามารถส่งผลต่อคุณสมบัติของโปรตีนและฤทธิ์ทางชีวภาพได้

- ซึ่งในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนไฮโดรไลเสทของเมล็ดถั่วพุนั้น เช่นงานวิจัยของ Wan Mohtar, W. A ปี 2014 ได้นำเมล็ดถั่วพุนั้นสกัดไขมันออกแล้ว 20 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น จากนั้นทำการปรับสภาวะ
- 30 ของสารละลายให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์อัลคาเลส ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 8.0 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส, เอนไซม์โปรมิเลน ค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ

- 6.5 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, เอนไซม์ฟลาโวไซม์ ค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 8.0 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และเอนไซม์ปาเปน ค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 6.5 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำการย่อยนาน 5 ชั่วโมงและทำการปรับค่าความเป็นกรดต่างให้คงที่โดยปรับด้วย 1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ 0.5 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริก เมื่อครบเวลาทำการหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ปลอຍให้อุณหภูมิเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 20 นาที เพื่อทำการแยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำและส่วนที่ละลายน้ำ โดยทำการเก็บส่วนที่ละลายน้ำไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และงานวิจัยของ Yea, C. S. และคณะ ปี 2014 ได้แสดงขั้นตอนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วพู โดยเมล็ดถั่วพูบดละเอียดผสมตัวอย่างกับน้ำกลั่นให้ความร้อนจนเดือด ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำเข้าถุงไดอะไลซิส (dialysis membrane) ที่มีขนาดโมเลกุลที่ผ่านเข้าออกได้เท่ากับ 12-14 กิโลดาลตัน ใส่ลงในน้ำกลั่น นาน 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 7,000 g นาน 10 นาที ทำการเก็บส่วนตะกอนโปรตีนเพื่อทำการย่อยเป็นโปรตีนไฮโดรไลส นำโปรตีนที่สกัดได้มาละลายกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน (1: 25) น้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.5 และอุณหภูมิของตัวอย่าง 70 องศาเซลเซียส ทำการเติมเอนไซม์ปาเปนลงไป ในอัตราส่วนเอนไซม์ต่อซับสเตรท (1:50) น้ำหนักต่อน้ำหนัก จากนั้นทำการย่อยเป็นเวลา 14 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาที่น้ำเดือดจัดเป็นเวลา 15 นาที ปลอຍให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และนำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 g เป็นเวลา 30 นาที ทำการเก็บส่วนใสเพื่อนำไประเหิดแห้งแบบสุญญากาศ เพื่อให้ตัวอย่างแห้งและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส

- ซึ่งจะเห็นได้ชัดว่าจากรายงานการวิจัยดังกล่าวนี้มีวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วพูที่มีความซับซ้อน ยากที่นำไปต่อยอดในระดับอุตสาหกรรม และมีการใช้เอนไซม์ที่หลากหลาย ช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน

- เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวในการประดิษฐ์นี้มีการใช้ความเป็นกรดต่าง (pH) ที่จำเพาะ ระยะเวลาในการย่อยที่จำเพาะ และมีการนำเมล็ดถั่วพูไปฉายรังสีแกมมาก่อนการสกัดโปรตีน โดยการฉายรังสีแกมมาสามารถช่วยเพิ่มปริมาณของโปรตีนที่สกัดได้ เพราะคุณสมบัติของรังสีแกมมาจะไปทำลายเซลล์ภายนอกของเมล็ดพืชที่อยู่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด ทำให้เซลล์ได้รับความเสียหาย เมื่อทำการสกัดโปรตีนออกจากเมล็ดพืชก็จะได้ในปริมาณที่สูงขึ้น ซึ่งในกรรมวิธีนี้ทำการฉายด้วยรังสีแกมมาที่ความแรง 2.1 กิโลเกรย์ต่อชั่วโมง (kGy/h) เป็นเวลา 4.7 ชั่วโมง และเมื่อนำโปรตีนดังกล่าวมาผ่านกระบวนการพบว่าโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วพูที่ฉายรังสีแกมมา ที่ได้นั้นจากผลการทดลองดีพีพีเอส (DPPH assay) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.03 ± 6.48 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการทดลองเอบีทีเอส (ABTS assay) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.10 ± 1.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (The half maximal inhibitory concentration หรือ IC_{50} คือความเข้มข้นของการยับยั้งสูงสุดครั้งหนึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารในการยับยั้งการทำงานทางชีวภาพหรือทางชีวเคมีที่เฉพาะเจาะจง) เนื่องจากการประดิษฐ์นี้ได้มีการคิดค้นใช้ขั้นตอนที่ไม่ซับซ้อนแต่

ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพสูงจึงสามารถนำมาขยายเพื่อใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ โดยการนำเทคโนโลยีนี้มาเผยแพร่เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่อไปได้

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

- การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนากรรมวิธีเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่มีโปรตีนสูงและสามารถดูดซึม
- 5 ได้ง่ายจากโปรตีนไฮโดรไลเสทของเมล็ดถั่วพูฉายรังสีแกมมาสำหรับด้านอนุมูลอิสระ โดยผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทของเมล็ดถั่วพูฉายรังสีแกมมานี้มีส่วนประกอบหลัก คือ โปรตีนจากเมล็ดถั่วพู น้ำ และเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) ซึ่งมีขั้นตอนการผลิตหลัก 4 ขั้นตอน ตั้งแต่การฉายรังสีแกมมาไปยังเมล็ดถั่วพู การสกัดโปรตีนจากเมล็ดถั่วพู การย่อยโปรตีนจากเมล็ดถั่วพูด้วยเอนไซม์ ตลอดจนการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูด้วยวิธีการทำแห้งแบบระเหิด โดยมีขั้นตอนที่ง่ายไม่ซับซ้อนสามารถ
- 10 ผลิตได้ทั้งในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนั้นการใช้เทคโนโลยีนี้เพื่อเพิ่มมูลค่าของเมล็ดถั่วพู ซึ่งเป็นพืชที่พบได้อย่างแพร่หลายในประเทศไทย ราคาถูกเพื่อช่วยในการลดต้นทุนการผลิตและมีปริมาณของโปรตีนที่สูงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบของอาหารเสริม

- วัตถุประสงค์ของการประดิษฐ์ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากโปรตีนเมล็ดถั่วพูฉายรังสีแกมมาสำหรับ
- 15 ด้านอนุมูลอิสระและกรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูเป็นลักษณะผงละเอียด สีขาว ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลลดผลกระทบที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระต่อร่างกายและเป็นการเพิ่มมูลค่าของเมล็ดถั่วพูที่เป็นพืชเศรษฐกิจของไทยและมีราคาถูก โดยใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่มีโปรตีนสูงและดูดซึมได้ง่าย

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

- กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูฉายรังสีแกมมาสำหรับด้านอนุมูลอิสระ มีขั้นตอนดังนี้
- 20 ก. นำเมล็ดถั่วพูบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหารจากนั้นนำไปฉายรังสีแกมมาด้วยความแรง 2.1 – 7.1 กิโลเกรย์ต่อชั่วโมง (kGy/h) เป็นเวลา 4.7 – 9.7 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างลงในถุงพลาสติกเพื่อร่อนนำไปสกัดโปรตีนต่อไป ค่าที่เหมาะสมของการฉายรังสีแกมมาอยู่ที่ 2.1 กิโลเกรย์ต่อชั่วโมง (kGy/h) เป็นเวลา 4.7 ชั่วโมง

- ข. นำเมล็ดถั่วพูที่บดละเอียดและผ่านการฉายรังสีแกมมาแล้วจากข้อ ก. มาสกัดโปรตีนโดยทำการละลายโปรตีนในเมล็ดถั่วพูที่สภาวะต่างและทำการตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กตริก (Isoelectric point) โดยนำเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการบดให้ละเอียดผสมกับน้ำที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 10.0 ที่อัตราส่วน 1:10 (น้ำหนักถั่วพูต่อปริมาตรน้ำ) และกวนให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องกวนสารใช้สนามแม่เหล็ก
- 25 หมุน (Magnetic stirrer) เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และนำไปเหวี่ยงแยกสารละลายที่ 8,820 × g นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนสารละลายมาตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กตริก
- 30 (Isoelectric pH ; PI = 3.5 - 8.5) ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 โมลาร์ จากนั้นเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีนที่ 10,000 × g นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการรักษาสภาพโปรตีน

โดยการนำน้ำกลั่นมาละลายในส่วนตะกอนและปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เท่ากับ 7.0 - 12.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์

- ค. จากนั้นนำสารละลายจากข้อ ข. มาผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) มาให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์อัลคาเลส ที่ความเข้มข้น 2.4-7.4
- 5 ยูนิตต่อกรัม ทำการย่อยนาน 6-7 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 50-55 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่างที่ 7.0-7.4 จากนั้นกวนส่วนผสมอย่างต่อเนื่อง ค่าที่เหมาะสมของเอนไซม์อัลคาเลส อยู่ที่ความเข้มข้น 2.4 ยูนิตต่อกรัม ระยะเวลาทำการย่อย 6 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.0

- ง. ทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์อัลคาเลส โดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 10

จ. จากนั้นนำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทของเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาผ่านกระบวนการทำแห้งแบบระเหิด หลังกระบวนการทำให้แห้งแบบระเหิดจะได้ผงละเอียดสีขาว โดยบรรจุเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

- ทั้งนี้ กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ประกอบด้วย
- 15 ขั้นตอนการนำโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูที่ฉายรังสีแกมมาทำให้เป็นผงละเอียดสีขาว จากกรรมวิธีการผลิตที่กล่าวมานี้ ได้มีการวิจัยและพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทของเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา มีคุณสมบัติดังนี้

- 1.ปริมาณโปรตีน 12.38 ± 1.86 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- (วิเคราะห์ตามวิธีของ Firmansyah MA และ Abduh MY 2019 ตีพิมพ์ใน Heliyon 5:e02005)
- 20 2.ค่าการต้านอนุมูลอิสระ แสดงดังตารางที่ 1
- (วิเคราะห์ตามวิธีของ Memarpoor-Yazdi M และคณะ 2013 ตีพิมพ์ใน Journal of Functional Foods 5:62-70)

ตารางที่ 1 ค่าการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาจากวิธีดีพีพีเฮซ (DPPH assay) และวิธี เอบีทีเอส (ABTS assay)

25 ตัวอย่าง	วิธี ดีพีพีเฮซ (DPPH assay)	วิธี เอบีทีเอส (ABTS assay)
โปรตีนไฮโดรไลเสทของเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา	10.03 ± 6.48 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	3.10 ± 1.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

เหมือนกับที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถ้อยสัญญา

1. กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา มีขั้นตอนดังนี้

ก. นำเมล็ดถั่วที่บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหารจากนั้นนำไปฉายรังสีแกมมาที่ความแรง 2.1 - 7.1 กิโลเกรย์ต่อชั่วโมง (kGy/h) เป็นเวลา 4.7 - 9.7 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างลงในถุงพลาสติก

5 เพื่อร่อนนำไปสกัดโปรตีนต่อไป

ข. นำเมล็ดถั่วที่บดละเอียดและผ่านการฉายรังสีแกมมาแล้วจากข้อ ก. มาสกัดโปรตีนโดยทำการละลายโปรตีนในเมล็ดถั่วที่สภาวะต่างและทำการตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point) โดยนำเมล็ดถั่วที่ผ่านการบดให้ละเอียดผสมกับน้ำที่มีความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 10.00 ที่อัตราส่วน 1 : 10 (น้ำหนักถั่วต่อปริมาตรน้ำ) และกวนให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน

10 ด้วยเครื่องกวนสารใช้สนามแม่เหล็กหมุน (Magnetic stirrer) เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และนำไปเหวี่ยงแยกสารละลายที่ $8,820 \times g$ นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนสารละลายมาตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric pH ; PI = 3.5 - 8.5) ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 โมลาร์ จากนั้นเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีนที่ $10,000 \times g$ นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการรักษาสภาพโปรตีนโดยการนำน้ำกลั่นมาละลายในส่วนตะกอนและ

15 ปรับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ให้เท่ากับ 7.0 - 12.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์

ค. จากนั้นนำสารละลายจากข้อ ข. มาผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) มาให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์อัลคาเลส ที่ความเข้มข้น 2.4 - 7.4 ยูนิตต่อกรัม ทำการย่อยนาน 6 - 7 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 50 - 55

20 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่างที่ 7.0-7.4 จากนั้นกวนส่วนผสมอย่างต่อเนื่อง

ง. ทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์อัลคาเลส โดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

จ. จากนั้นนำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลสของเมล็ดถั่วที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาผ่านกระบวนการทำแห้งแบบระเหิด หลังกระบวนการทำให้แห้งแบบระเหิดจะได้ผงละเอียดสีขาว โดย

25 บรรจุเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

2. กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ตามข้อถ้อยสัญญาที่ 1 ที่ซึ่งความแรงของการฉายรังสีแกมมา ตามขั้นตอน ก. ที่เหมาะสม คือ ที่ 2.1 กิโลเกรย์ต่อชั่วโมง (kGy/h) และระยะเวลาที่เหมาะสมคือ 4.7 ชั่วโมง

3. กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ตามข้อถ้อยสัญญาที่ 1 ที่ซึ่งอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมตามขั้นตอน ค. ที่เหมาะสม คือ 55 องศาเซลเซียส และ ค่าความเป็นกรดต่าง 7 ตามลำดับ

30

4. กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสจากเมล็ดถั่วที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ตามข้อถ้อยสัญญาที่ 1 ที่ซึ่งความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาเลสที่เหมาะสมตามขั้นตอน ค. ที่เหมาะสม คือ 2.4 ยูนิตต่อกรัม


นายสุวิชัย บุญอารี

5. กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพุดผ่านการฉายรังสีแกมมา ตามข้อสัทธิที่ 1 ที่ซึ่งระยะเวลาการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) ที่เหมาะสมตามขั้นตอน ค. ที่เหมาะสม คือ 6 ชั่วโมง
6. ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพุดผ่านการฉายรังสีแกมมา
- 5 ตามข้อสัทธิที่ 1 ถึง 5 ข้อใดข้อหนึ่ง

25421

หน้า 1 ของจำนวน 1 หน้า

บทสรุปการประดิษฐ์

- กรรมวิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ตามการประดิษฐ์นี้ มีส่วนประกอบหลัก คือ โปรตีนจากเมล็ดถั่วพูที่ฉายรังสีแกมมา น้ำ และเอนไซม์อัลคาเลส ซึ่งมีขั้นตอนการผลิตตั้งแต่ นำเมล็ดถั่วพูไปฉายรังสีแกมมา การสกัดโปรตีนจากเมล็ดถั่วพูที่ฉายรังสีแกมมา การย่อยโปรตีนจากเมล็ดถั่วพูที่ฉายรังสีแกมมาด้วยเอนไซม์ ตลอดจนการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเสทจากเมล็ดถั่วพูที่ฉายรังสีแกมมาด้วยวิธีการทำแห้งแบบระเหิด
- 5

25421